

ANTIMICROBIAL AGENT

Patent number: JP2002234808
Publication date: 2002-08-23
Inventor: SAKAGAMI KAZUYUKI; KOISO HIROAKI; MINE HIROYOSHI
Applicant: SANEI GEN FFI INC
Classification:
- international: A01N63/00; A23L3/3517; A23L3/3526
- european:
Application number: JP20010350837 20011115
Priority number(s): JP20010350837 20011115; JP20000347408 20001115

Report a data error

Abstract of JP2002234808

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain an antimicrobial agent not deteriorating qualities of food, by bacteria, especially not deteriorating qualities of food by thermophilic bacteria. **SOLUTION:** The antimicrobial agent is characterized by comprising lysozyme and a sucrose fatty acid ester. In more detail, lysozyme and a sucrose fatty acid ester having ≥ 13 HLB value are used.

~~~~~  
Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

**BEST AVAILABLE COPY**

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号  
特開2002-234808  
(P2002-234808A)

(43) 公開日 平成14年8月23日 (2002.8.23)

|                           |       |                |             |
|---------------------------|-------|----------------|-------------|
| (51) Int.Cl. <sup>7</sup> | 識別記号  | F I            | テームコード (参考) |
| A 0 1 N 63/00             |       | A 0 1 N 63/00  | A 4 B 0 2 1 |
| A 2 3 L 3/3517            |       | A 2 3 L 3/3517 | 4 H 0 1 1   |
| 3/3526                    | 5 0 1 | 3/3526         | 5 0 1       |

審査請求 未請求 請求項の数 7 O L (全 9 頁)

(21) 出願番号 特願2001-350837 (P2001-350837)

(22) 出願日 平成13年11月15日 (2001. 11. 15)

(31) 優先権主張番号 特願2000-347408 (P2000-347408)

(32) 優先日 平成12年11月15日 (2000. 11. 15)

(33) 優先権主張国 日本 (J P)

(71) 出願人 000175283  
三栄源エフ・エフ・アイ株式会社  
大阪府豊中市三和町1丁目1番11号

(72) 発明者 坂上 和之  
大阪府豊中市三和町1-1-11三栄源エフ・エフ・アイ株式会社内

(72) 発明者 小磯 博昭  
大阪府豊中市三和町1-1-11三栄源エフ・エフ・アイ株式会社内

(72) 発明者 峯 裕喜  
大阪府豊中市三和町1-1-11三栄源エフ・エフ・アイ株式会社内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗菌剤

(57) 【要約】

【課題】 菌による食品等の品質を劣化、特に耐熱性菌による食品等の品質を劣化させることのない抗菌剤を提供する。

【解決手段】 リゾチームとショ糖脂肪酸エステルが含有されていることを特徴とする抗菌剤に関する。より詳しくは、リゾチームとHLB値が1.3以上であるショ糖脂肪酸エステルを用いる。

(2)

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 リゾチームとショ糖脂肪酸エステルが含有されていることを特徴とする抗菌剤。

【請求項2】 ショ糖脂肪酸エステルのHLB値が13以上である請求項1記載の抗菌剤。

【請求項3】 耐熱性菌の抗菌剤に用いることを特徴とする請求項1及び2記載の抗菌剤。

【請求項4】 *Bacillus*属の抗菌剤に用いることを特徴とする請求項1及び2記載の抗菌剤。

【請求項5】 飲食品を、リゾチームを添加による処理と、ショ糖脂肪酸エステル添加による処理との併用処理に付すことを特徴とする食品の保存方法。

【請求項6】 ショ糖脂肪酸エステルのHLB値が13以上である請求項5記載の食品の保存方法。

【請求項7】 請求項1記載の抗菌剤を含有する食品。

## 【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、リゾチームとショ糖脂肪酸エステルが含有されていることを特徴とする抗菌剤に関する。より詳しくは、リゾチームとHLB値が13以上であることを特徴とする、食品等に有用な抗菌剤に関する。

【0002】

【従来の技術】 近年の嗜好の細分化に伴い、様々な食品等が市場にあふれてきており、また、こういう様々な食品等の保存期間・保存状態もまた多岐に渡るようになった。保存期間や保存状態によっては、食品等の中に菌等が少量でも存在していた場合、数日で変敗し、商品価値が低下してしまう問題があった。また、食品や飲料での殺菌条件（一般的な食品の殺菌条件：85℃15分間の加熱、一般的な飲料の殺菌条件：121℃、4分間の加熱）では、一般細菌、かび、酵母等は死滅するが、特に*Bacillus*属、*Clostridium*属、*Desulfotomaculum nigrificans*等といった耐熱性菌は十分に死滅しないため、商品価値が保持される期間は短いものとなっていた。一方、十分に菌等が死滅する条件で殺菌を施すと、商品価値を保持できる期間は長くなるものの、タンパク質変性、油脂酸化等により、食品等の食感、物性、風味の変化をきたすことがあった。

【0003】 こういった食品等の品質劣化を防止するために、従来より、中鎖脂肪酸モノグリセリド、ショ糖脂肪酸エステル、グリシン、酢酸ナトリウム、有機酸、エタノール、リゾチーム等を用いることが知られており、これらは、単独または数種を併用した抗菌剤、例えば、ジグリセリンモノカプリル酸エステル、テトラグリセリンモノカプリン酸エステル、ヘキサグリセリンモノラウリン酸エステルとリゾチーム、グリジン又はそのグリシン、有機酸および又は有機酸等を組み合わせた食品保存剤（特開平6-261725号）、ショ糖脂肪酸エステル、ポリグリセリン脂肪酸エステル、レシチンからな

る静菌剤（特開平10-225282）、ポリグリセリン脂肪酸エステルとリゾチームを併用する食品の保存法（特開平1-218577）、ポリグリセリン脂肪酸エステル、リゾチーム、プロタミンを併用することを特徴とする食品の保存法（特開平2-23856）、リゾチーム、低級モノグリセリド、エタノールからなる食品保存剤（特公平6-6049）等が提案されている。

【0004】 これらの方法はいずれも菌の発育を抑制あるいは菌の増殖を防止する効果は認められるものの、食品等の成分や物性などによっては、菌を十分に殺滅あるいは抑制し得るものではなかった。また、菌を抑制するために多くの抗菌剤を添加する必要があり、食品の風味、味に影響を及ぼすのが実情であった。

【0005】 また、特開平02-060560（フィリング）や特開2000-201660（抗菌剤）にショ糖脂肪酸エステルとリゾチームの利用が示唆されているが、特定のショ糖脂肪酸エステルとリゾチームの組み合わせにより、耐熱性菌、特に*Bacillus*属の菌の殺菌や増殖の抑制を行うことについてはなんら開示されていない。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】 本発明は、このような実情に鑑み、食品等の品質を劣化させることのない抗菌剤及び食品等の保存方法を提供するために鋭意研究を重ねたところ、リゾチームとショ糖脂肪酸エステルを各々単独で用いるのではなく、両者を併用した抗菌剤を用いることにより、リゾチームとショ糖脂肪酸エステルの単独では効果の無かった菌に対しても抗菌・抑制効果を発揮し、また、耐熱性菌等に対してもそれぞれ単独では得られない相乗的な抗菌性を発揮し、加熱殺菌後の食品等が、種々の保存状態においても菌等の発育を抑制できることを見出し、本発明を提供するに至った。

【0007】 尚、本発明でいう菌とは、一般的に食品等において腐敗等の問題となっている菌であり、耐熱性菌とは、芽胞を形成し、一般的な加熱処理（80℃ 20分）では死滅しない菌である。詳細には、*Bacillus*属（*Bacillus cereus*、*B. subtilis*、*B. stearothermophilus*、*B. coagulans*等）や*Clostridium*属（*Clostridium thermacetivum*、*Cl. thermosulfuricum*、*Cl. sporogenes*等）および*Desulfotomaculum nigrificans*、*Alicyclobacillus acidocaldarius*、*Alicyclobacillus acidoterrestris*等の耐熱性有芽胞菌をいう。なかでも*Bacillus*属の菌は抗菌剤等に対する抵抗性が高く、多くの食品、様々な保存状態において生育するため問題となっていた。

【0008】

【課題を解決させるための手段】 上記の目的は、リゾチームとショ糖脂肪酸エステルを含有する抗菌剤を食品等に添加することにより達成される。

【0009】 本発明の抗菌剤は、食品等の保存、抗菌、静菌、日持ち向上に関するものであり、本発明の抗菌剤

(3)

の対象となる食品等としては、食品、医薬品、医薬部外品、化粧品、飼料、ペットフード等が挙げられる。本発明の抗菌剤の対象となる食品等として、例えば、無糖コーヒー、ミルクコーヒー、カフェオレ、コーヒー牛乳等のコーヒー飲料、ミルクティー、紅茶、ストレートティー、レモンティー等の紅茶飲料、緑茶、ウーロン茶、ブレンド茶等の茶系飲料、牛乳、ミルクセーキ等の乳飲料、ココア、ポットチョコレート等のカカオ飲料、しるこ、甘酒、飴湯、しょうが湯の飲料等のpHが5以上の中性飲料、果汁飲料、炭酸飲料、酸生乳飲料等のpHが5未満の酸性飲料、ドーナツ、スポンジケーキ、マドレーヌ、蒸しパン、あんパン、クリームパン、ホットケーキ、シュークリーム等の菓子類、アイスクリーム、プリン、ババロア、ヨーグルト、フルーツゼリー、コーヒーゼリー、杏仁豆腐等のデザート類、卵サラダ、マカロニサラダ、ポテトサラダ等のサラダ類、ソーセージ、ハム、焼き豚、豚カツ、トリ唐揚げ、ミートボール、しょうまい、ぎょうざ等の畜肉加工品、調味みそ、ごまだれ、ドレッシング等の調味料類、蒲鉾、竹輪、はんぺん等の水産練り製品、柴漬け、梅干し、たくあん、浅漬け、キムチ等の漬け物類、カスタードクリーム、小豆あん、フラワーペースト等の餡類、大判焼き、あんまん、にくまん、パン、ドーナツ、カステラ等の製菓類、イチゴジャム、マーマレード等のジャム類、塩辛、みりん干し、一夜干し等の水産加工品、卵焼き、オムレツ、スクランブルエッグ等の卵製品、うどん、そば、焼きそば等の麺類、卵サンド、ハムサンド等のサンドイッチ類、赤飯むすび、鮭おむすび、梅入りおむすび等のおむすび類、イカ佃煮、のり佃煮等の佃煮類、おでん、昆布煮、野菜の煮物等の煮物類、えびフライ、牡蠣フライ、コロケ等のフライ揚げ物食品類、豆腐、厚揚げ、いなり等の豆腐加工食品類等が挙げられる。

【0010】リゾチームは分子量14400、129個のアミノ酸から成る塩基性タンパク質で、等電点はpH10.5～11である。リゾチームの作用は細菌の細胞壁にあるペプチドグリカン層のN-アセチルムラミン酸とN-アセチルグルコサミンの間の $\beta$ -1,4-グリコシド結合を切断する作用であり、それによって細菌細胞に溶菌を起こさせる。この作用はグラム陽性菌では容易に起こるが、グラム陰性菌の表面はリポタンパク質-リポ多糖の層で覆われているため、リゾチームの接触が妨げられ、溶菌効果まで至らないことが多い。本発明にいうリゾチームとは、食品への使用許可されているものであれば良く、通常のリゾチームの他にも、化学的、物理的に改良されたリゾチームも本発明のリゾチームとして用いることが出来る。具体的に本発明のリゾチームとして使用されるものとして、卵白由来、魚類の体液由来、微生物由来、バクテリオファージ由来等、動物由来精製リゾチームや遺伝子操作技術を利用して調製されたリゾチーム、及び、これらのリゾチームを酸やアルカリ、加熱、

加圧等により化学的・物理的に処理した改良リゾチーム等も挙げられる。本発明のリゾチームは市場で入手可能であり、市販されているリゾチームとしては、卵白リゾチーム（キューピー社製、エーザイ社製、太陽化学社製他）、うずら卵リゾチーム等が挙げられる。

【0011】本発明に用いるショ糖脂肪酸エステルとしては、ショ糖に炭素数12～18の脂肪酸をエステル化したものを主として用いるとよく、HLBが13以上のものを用いることが、食品等における分散性及び抗菌効果の点より好適である。脂肪酸としてステアリン酸、パルミチン酸のものが好ましく、更に、構成脂肪酸の割合が、ステアリン酸：パルミチン酸＝2：8～4：6のものが効果の点より好ましい。また、エステル組成の割合が、モノエステル：ジエステル及びポリエステル＝6：4～9：1のものがその効果の点より好ましい。また、本発明においては、脂肪酸の割合やエステル化度の割合が異なる1種あるいは2種以上のショ糖脂肪酸エステルを混合して使用することもできる。本発明のショ糖脂肪酸エステルは、市場で入手可能であり、市販されているショ糖脂肪酸エステルとしては、例えば第一工業製薬、三菱化学フーズ（株）社製等が挙げられる。

【0012】リゾチームとショ糖脂肪酸エステルの添加量は、対象となる食品等において異なるため、一概には規定することはできないが、食品等の全体重量中、リゾチームの添加量が0.005～0.1重量%（以下、特に記載のない限り%は重量%を示すものとする）、好ましくは0.01～0.05%、ショ糖脂肪酸エステルの添加量が0.001～0.5%、好ましくは0.01～0.1%、とすることがその効果の点より好適である。リゾチームの添加量が0.005%未満の場合は、その効果の点より充分ではなく、ショ糖脂肪酸エステルの添加量が0.001%未満の場合、菌に対する抗菌力を発揮するのが困難となるためである。また、リゾチームの添加量を0.1%、ショ糖脂肪酸エステルの添加量を0.5%より高濃度にしても静菌効果に差が出ず、添加する対象となる食品、化粧品、医薬品の風味に影響を及ぼすことがあるためである。また、リゾチームとショ糖脂肪酸エステルとの配合割合は、リゾチーム：ショ糖脂肪酸エステル＝4：1～1：4であることが望ましい。

【0013】また、本発明の抗菌剤には、リゾチームとショ糖脂肪酸エステルとの有する効果を妨げない範囲において、グリセリン脂肪酸エステル、ソルビタン脂肪酸エステル、プロピレングリコール脂肪酸エステル、レシチン等の乳化剤、カラギーナン、キサンタンガム、ジェランガム、グアーガム、タラガム、キトサン、マクロホモブシスガム、アラビアガム、ベクチン、ローカストビーンガム等のガム質、デンプン、カゼインナトリウム、乳清タンパク質濃縮物、ポリキシメチルセルロース（CMC）等の高分子化合物及びその分解物、アラニン、グリシン、ベタイン、グルタミン酸等のアミノ酸及

(4)

5

びその塩類、クエン酸、酢酸、酒石酸、アジピン酸、乳酸、ソルビン酸、安息香酸、プロピオン酸、フマル酸、リンゴ酸、フィチン酸、イタコン酸等の有機酸及びその塩類、リン酸、メタリン酸、ポリリン酸、メタリン酸等のリン酸類及びその塩類、しらこたんばく抽出物、ホオノキ抽出物、タデ抽出物、ローズマリー抽出物、クローブ抽出物等の動・植物由来の抽出物、大豆多糖類、乳糖、ミネラル類、ビタミン類、糖アルコール類、保存料、日持ち向上剤、香料、着色料等を含有することができる。

【0014】本発明の抗菌剤は、リゾチーム及びショ糖脂肪酸エステルが含有されていればよく、その含有方法としては、従来、公知の方法がとられる。例えば、粉末化されたリゾチームと粉末化されたショ糖脂肪酸エステルを粉体混合して本発明の抗菌剤を得ることが挙げられる。また、食品への含有方法としても、従来、公知の方法がとられる。例えば、得られた抗菌剤を対象とする食品等の原料に混合し、食品を調製するといった方法が挙げられる。

【0015】

【発明の効果】リゾチームとショ糖脂肪酸エステルを含むことを特徴する抗菌剤は、食品等における使用原料及び製造工程由来の菌、特にBacillus属の菌に対して、優れた抗菌・抑制効果を示し、加熱殺菌後の菌を種々の保存状態においても発育を抑制することができ、この抗菌剤を用いることにより品質の安定した食品等を得ることができる。

【0016】

【実施例】以下、本発明の内容を以下の実施例及び実験例を用いて、具体的に説明するが、本発明はこれらに何

6

三栄源エフ・エフ・アイ株式会社製品を示す。

【0017】

【実験例1】リゾチーム及びショ糖脂肪酸エステル(以下SEと記することがある)からなる抗菌剤のBacillus cereus IF015305、Bacillus subtilis IF013719、Staphylococcus aureus IAM12544に対する抑制効果

【0018】使用した試料

実施例 リゾチーム及びショ糖脂肪酸エステルの混合物：リゾチーム(キューピー社製 卵白リゾチーム)とショ糖脂肪酸エステル(三菱化学社製 リョートエステルP1670)を1:1の配合割合になるように粉末混合し、抗菌剤を調製した。

比較例1 リゾチーム(キューピー社製 卵白リゾチーム)

比較例2 ショ糖脂肪酸エステル(三菱化学社製リョートエステルP1670、パルミチン酸70%配合)

【0019】抗菌試験方法

標準寒天培地に上記抗菌性物質を最終濃度が(1)0.005%、(2)0.0125%、(3)0.025%になるように加えて、Bacillus cereus IF015305、Bacillus subtilis IF013719、Staphylococcus aureus IAM12544(10<sup>5</sup>個/g)を培養し、実施例1(1)~(3)、比較例1(1)~(3)、比較例2(1)~(3)における、35℃48時間後のBacillus cereus IF015305、Bacillus subtilis IF013719及びStaphylococcus aureus IAM12544の発育を観察した。その結果を表1に示す。

【0020】

【表1】Bacillus cereus IF015305、Bacillus subtilis IF013719及びStaphylococcus aureus IAM12544に対する抗菌効果

30

(5)

|      | 添加量 (%)                    | Bacillus cereus<br>IFO15305 | Bacillus subtilis<br>IFO3719 | Staphylococcus<br>aureus<br>IAM12544 |
|------|----------------------------|-----------------------------|------------------------------|--------------------------------------|
| 実施例  | (リゾチーム+SE 添加量: 配合割合 1 : 1) |                             |                              |                                      |
| (1)  | 0.005                      | ++                          | ++                           | ++                                   |
| (2)  | 0.0125                     | +                           | +                            | +                                    |
| (3)  | 0.025                      | —                           | —                            | —                                    |
| 比較例1 | (リゾチーム添加量)                 |                             |                              |                                      |
| (1)  | 0.005                      | +++                         | +++                          | +++                                  |
| (2)  | 0.0125                     | +++                         | ++                           | +++                                  |
| (3)  | 0.025                      | +++                         | +                            | +++                                  |
| 比較例2 | (SE添加量)                    |                             |                              |                                      |
| (1)  | 0.005                      | +++                         | +++                          | +++                                  |
| (2)  | 0.0125                     | ++                          | +++                          | ++                                   |
| (3)  | 0.025                      | —                           | +++                          | +                                    |

表中の記号の意味

+++ : 対象と同じ活発な生育

++ : 良く生育

+: 生育

— : 生育せず

表1に示すようにリゾチームを使用した比較例1(1)～(3)より、リゾチームは0.005～0.025%の範囲の添加では、Bacillus cereus IFO15305、Bacillus subtilis IFO13719ともに抗菌効果は認められなかった。一方、シヨ糖脂肪酸エステルを使用した比較例2(1)～(3)より、シヨ糖脂肪酸エステルはBacillus cereus IFO15305においては、シヨ糖脂肪酸エステルの添加量が0.025%で抗菌効果が認められたが、Bacillus subtilis IFO13719に対して0.005～0.025%の範囲の添加では抗菌効果が認められなかった。これに対して、実施例のリゾチームとシヨ糖脂肪酸エステルを併用した場合は、リゾチームとシヨ糖脂肪酸エステルとを単独で利用した場合に比べて、少ない添加量で菌の生育を抑制・抗菌する効果が見られた。例えば、実施例(3)はリゾチーム0.0125%、シヨ糖脂肪酸エステルを0.0125%を調製し、これにより併用物を0.025%を得たものであるが、実施例(3)においては、Bacillus cereus、Bacillus subtilisともに抗

菌効果が認められたが、リゾチームを0.0125%単独で添加した、比較例1(2)においてはBacillus cereus、Bacillus subtilisともに抗菌効果がみられず、シヨ糖脂肪酸エステルを0.0125%単独で添加した、比較例2(2)においてはBacillus cereus、Bacillus subtilisともに抗菌効果がみられなかった。つまり、リゾチームとシヨ糖脂肪酸エステルを併用して使用することにより、リゾチームとシヨ糖脂肪酸エステルを単に併用する以上の効果が得られることが示された。また、Staphylococcus aureusにおいても、リゾチームとシヨ糖脂肪酸エステルを併用して使用することにより、リゾチームとシヨ糖脂肪酸エステルを単に併用するだけでは得られない、抗菌効果が得られることが示された。

【0021】

【実験例2】缶コーヒーにおける耐熱性菌の抑制効果  
リゾチーム及び食品用乳化剤(シヨ糖脂肪酸エステル、グリセリン脂肪酸エステル)を用いた場合の缶コーヒーにおける微生物抑制効果を検討した。

【0022】(1) 実験方法

耐熱性菌を含む試料を選択するため、一般的な高温性有芽胞菌測定法(全国清酒工業会:改訂新版ソフトドリンクス、光琳、p733(1997))を用い、5～10個/gの耐熱性菌を有する試料として海草粉末を選択した。

(6)

9

【0023】(2) 使用したリゾチーム、ショ糖脂肪酸エステル、グリセリン脂肪酸エステルリゾチーム：卵白リゾチーム（キュービー社製）

P16：ショ糖脂肪酸エステル（三菱化学社製リョートーエステルP1670、パルミチン酸C16主体、HLB16）

P15：ショ糖脂肪酸エステル（三菱化学社製リョートー \*

10

\* エステルP1570、パルミチン酸C15主体、HLB15）

C8モノグリ：グリセリン脂肪酸エステル（太陽化学社製、サンソフトNo.700P2、中級脂肪酸C8：カプリル酸、HLB7.2）

【0024】

(3) 缶コーヒーの処方とその調製方法

(処方)

牛乳 12.0%  
砂糖 6.0%  
コーヒー（生豆換算） 5.2%（L値23、コーヒー抽出液（Brix3.9））

))

10%重曹水溶液 0.9%（殺菌時にpH6.8に調製する）

海草粉末 1.0%

抗菌剤 別表に記載（実施例2（1）～（3）、比較例

2（1）～（5））

水にて 全量100とする

【0025】

※含量

【表2】抗菌剤中におけるリゾチームと食用乳化剤の配※

|         | リゾチーム | ショ糖脂肪酸エステル (P16) | ショ糖脂肪酸エステル (P15) | グリセリン脂肪酸エステル (C8) |
|---------|-------|------------------|------------------|-------------------|
| 実施例2(1) | 0.01% | 0.01%            | —                | —                 |
| 実施例2(2) | 0.01% | 0.03%            | —                | —                 |
| 実施例2(3) | 0.01% | —                | 0.01%            | —                 |
| 比較例2(1) | —     | —                | —                | —                 |
| 比較例2(2) | 0.01% | —                | —                | —                 |
| 比較例2(3) | —     | 0.01%            | —                | —                 |
| 比較例2(4) | —     | —                | 0.01%            | —                 |
| 比較例2(5) | —     | —                | —                | 0.01%             |
| 比較例2(6) | 0.01% | —                | —                | 0.01%             |

【0026】（調製方法）

① 粗く挽いたコーヒー豆1kgに6倍量の熱水で40分間浸漬抽出した濾紙に16メッシュのふるいをのせ、濾紙（SM-45A）にて濾過後、冷却した。

② 容器に40%量の水を計り、攪拌しながら、砂糖、抗菌剤（実施例2（1）～（3）、比較例2（1）～（5））を徐々に加えて加温し、80℃、10分間攪拌溶解した。

③ ②で調製した溶液に牛乳を添加混合し、コーヒー抽出液を加え10%重曹液を加えpH6に調整した。

④ 混合した③の溶液を70℃に加温し、ホモゲナイズ（第一段0.98N/cm<sup>2</sup>、第二段0.49N/cm<sup>2</sup>）した。

⑤ 全量を計り、海草粉末を攪拌しながら添加し、再び10%重曹液にてpH6.8に調整した。

⑥ 所定の容器に充填し、110℃、20分間オートクレーブ殺菌した。

⑦ 保存方法は、オートクレーブ殺菌したコーヒー溶液を恒温器保管した（65℃、7日間）。

⑧ 変敗の確認は7日間保管した後、溶液のpHの変化を調べ、pH6未満のものを変敗とみなして判定した。表中には5缶中の腐敗の有無を表した。

【0027】

【表3】リゾチームと食品用乳化剤との併用による耐熱菌への効果

(7)

11

|          | 缶コーヒーの変敗 |   |   |   |   |
|----------|----------|---|---|---|---|
| 実施例2 (1) | -        | - | - | - | - |
| 実施例2 (2) | -        | - | - | - | - |
| 実施例2 (3) | -        | - | - | - | - |
| 比較例2 (1) | +        | + | + | + | + |
| 比較例2 (2) | +        | + | + | + | + |
| 比較例2 (3) | +        | + | + | + | + |
| 比較例2 (4) | +        | + | + | + | + |
| 比較例2 (5) | +        | + | + | + | + |
| 比較例2 (6) | +        | + | + | + | + |

表中の記号の意味

+ : 変敗したもの

- : 変敗が認められないもの

【0028】リゾチーム単独、ショ糖脂肪酸エステル単独及びC8モノグリとリゾチームと併用した場合、菌の抑制効果は得られなかった。一方、リゾチームとショ糖脂肪酸エステルとを併用した場合には顕著な効果を示した。つまり、併用したショ糖脂肪酸エステルが、リゾチームの抗菌効果を高め、リゾチームと食品用乳化剤との併用によって菌の抑制効果が見出された。

【0029】

【実験例3】惣菜（厚焼きたまご）におけるBacillus c\*

3) 惣菜（厚焼きたまご）の処方とその調製方法

(処方)

|         |                       |
|---------|-----------------------|
| 全卵      | 72.0%                 |
| 砂糖      | 3.5%                  |
| 加工でん粉   | 2.0% (コルフロ67:日本NSC社製) |
| キサンタンガム | 0.1% (サンエース*)         |
| ゼラチン    | 0.5%                  |
| 調味料     | 2.0%                  |
| 抗菌剤     | 別表に記載(実施例3(1)~(2)、比較例 |

3 (1) ~ (6))

水にて 全量100とする

【0033】

【表4】抗菌剤におけるリゾチームと食用乳化剤の配

12

\* cereusの抑制効果

リゾチーム及び食品用乳化剤（ショ糖脂肪酸エステル、グリセリン脂肪酸エステル）を用いた場合の惣菜（厚焼きたまご）における微生物抑制効果を検討した。

【0030】1) 実験方法

実験方法は、Bacillus cereus IF015305を5日間培養後、75℃で30分間加熱し、遠心と滅菌水による洗浄を3回繰り返し、リン酸緩衝液に懸濁し、再び、75℃で30分間加熱することにより芽胞懸濁液を得、これを惣菜（厚焼きたまご）に $10^3$ 個/gとなるように加え、惣菜（厚焼きたまご）の菌数が $10^6$ 個/gを越えるものを変敗と見なし測定した。

【0031】2) 使用したリゾチーム、ショ糖脂肪酸エステル、グリセリン脂肪酸エステル

リゾチーム：卵白リゾチーム（キュービー社製）

P16：ショ糖脂肪酸エステル（三菱化学社製リョートーエステルP1670、パルミチン酸C16主体、HLB16）

P15：ショ糖脂肪酸エステル（三菱化学社製リョートーエステルP1570、パルミチン酸C15主体、HLB15）

C8モノグリ：グリセリン脂肪酸エステル（太陽化学社製、サンソフトNo.700P2、中級脂肪酸C8：カプリル酸、HLB7.2）

【0032】

含量



(8)

13

14

|           | リゾチーム | ショ糖脂肪酸エステル (P16) | ショ糖脂肪酸エステル (P15) | グリセリン脂肪酸エステル (C8) |
|-----------|-------|------------------|------------------|-------------------|
| 実施例 3 (1) | 0.01% | 0.01%            | —                | —                 |
| 実施例 3 (2) | 0.01% | —                | 0.01%            | —                 |
| 比較例 3 (1) | —     | —                | —                | —                 |
| 比較例 3 (2) | 0.01% | —                | —                | —                 |
| 比較例 3 (3) | —     | 0.01%            | —                | —                 |
| 比較例 3 (4) | —     | —                | 0.01%            | —                 |
| 比較例 3 (5) | —     | —                | —                | 0.01%             |
| 比較例 3 (6) | 0.01% | —                | —                | 0.01%             |

## 【0034】(調製方法)

① 砂糖、加工でん粉、キサンタンガム、ゼラチン、調味料、抗菌剤(実施例 3 (1)～(2)、比較例 3

(1)～(6))を混合し、水を加えて分散溶解する。

② ①で調整した分散液にときほぐした卵及び耐熱性菌が $10^3$ 個/gとなるように調製した芽胞懸濁液を加え混合する。

③ ②で調製した溶液をフライパンにて焼き(中心温度 $80^{\circ}\text{C}$ 達温)、厚焼きたまごを得、これを $30^{\circ}\text{C}$ にて経日的に保存試験を行い、菌数測定を行った。

④ 変敗の確認は7日間保管した後、厚焼きたまごの菌数が $10^6$ 個/gを越えるものを変敗と見なして測定した。

## 【0035】

【表5】リゾチームと食品用乳化剤との併用による惣菜(厚焼きたまご)における耐熱性菌への効果

|           | 厚焼き卵の変敗 |   |   |   |   |
|-----------|---------|---|---|---|---|
| 実施例 3 (1) | —       | — | — | — | — |
| 実施例 3 (2) | —       | — | — | — | — |
| 比較例 3 (1) | +       | + | + | + | + |
| 比較例 3 (2) | +       | + | + | + | + |
| 比較例 3 (3) | +       | + | + | + | + |
| 比較例 3 (4) | +       | + | + | + | + |
| 比較例 3 (5) | +       | + | + | + | + |
| 比較例 3 (6) | +       | + | + | + | + |

表中の記号の意味

+: 変敗したもの

—: 変敗が認められないもの

【0036】リゾチーム単独、ショ糖脂肪酸エステル単独及びC8モノグリとリゾチームと併用した場合、菌の抑制効果は得られなかった。一方、リゾチームとショ糖脂肪酸エステルとを併用した場合で、顕著な効果を示した。つまり、併用したショ糖脂肪酸エステルが、リゾチームの抗菌効果を高め、リゾチームと食品用乳化剤との

併用によって菌の抑制効果が見出された。

## 【0037】

【実施例 1】カスタードプリン

砂糖10部、全卵30部、牛乳60部、ショ糖脂肪酸エステル(三菱化学社製リョートエステルP1570)0.05部、リゾチーム0.05部を混合し、容器充填後、 $140^{\circ}\text{C}$ で80分間オーブンで焼成しカスタードプリンを調整した。調整したカスタードプリンを $30^{\circ}\text{C}$ で1週間保持した後に食したが、耐熱性菌による腐敗は認められず、味風味ともに良好であった。

## 【0038】

【実施例 2】コーヒー乳飲料

砂糖6.5%、コーヒーエキス5.0%、全脂粉乳2.2%、脱脂粉乳2.0%、ショ糖脂肪酸エステル(三菱化学社製リョートエステルP1670)0.03%、リゾチーム0.01%、コハク酸モノグリ0.03%、重曹0.05%で全量水で調整し、缶容器に充填し、コーヒー乳飲料を得た。得られたコーヒー乳飲料を $121^{\circ}\text{C}$ 、30分間のレトルト殺菌し、 $55^{\circ}\text{C}$ で90日間保管した後に食したが、耐熱性菌による腐敗等は認められず、味風味ともに良好であった。

## 【0039】

【実施例 3】コーンスープ

砂糖5%、デキストリン2%、脱脂粉乳2%、コーン(大粒)10%、生クリーム1%、ポリグリセリン脂肪酸エステル(デカグリ)0.02%、ショ糖脂肪酸エステル(三菱化学社製リョートエステルP1670)0.03%、リゾチーム0.1%を全量水で調整し、レトルトパウチ容器に充填後、 $135^{\circ}\text{C}$ 20分間加熱殺菌しコーンスープを得た。得られたコーンスープを室温で6ヶ月保存した後食したが、耐熱性菌等による腐敗等は認められず、味、風味共に良好であった。

## 【0040】

【実施例 4】からあげ

食塩1.8%、砂糖1.8%、L-グルタミン酸ナトリウム0.6%、ミルプロン(タンパク製剤)、サンボリマー\* (塩漬剤)、ショ糖脂肪酸エステル0.1%、リ

(9)

15

ゾチーム0.1%を水で全量調製しピクル液を作成し、15gに切り分けた鶏胸肉を鶏胸肉全量に対して30%加え、2時間タンプリングした後、バターリングし、170度で4分間、油調してからあげを得た。得られたからあげを30度にて72時間保存した後食したが、菌による腐敗、変敗等もなく、味、風味とも良好なものであった。

【0041】

【実施例5】ソーセージ

豚うで肉65kg、豚脂10kg、氷25kg、食塩1.7kg、砂糖0.5kg、香辛料0.8kg、乳清たん白1kg、馬鈴薯澱粉3kg、ショ糖脂肪酸エステル0.02kg、リゾチーム0.03kgを混合し、定法により、ソーセージを得た。得られたソーセージを30度にて72時間、保存した結果、菌による腐敗、変敗等もなく、味、風味とも良好なものであった。

【0042】

【実施例6】アメリカンクッキー

薄力粉200g、食塩0.4gを混合し、無塩マーガリンを常温にて軟化させた後、万能混合攪拌機でホイッパーをもちいてクリーム状にする。得られた、混合物にショ糖脂肪酸エステル0.05g、リゾチーム0.05g、トレハロース（トレハ：（株）林原製品）100g、調味料、香料を適量加え、更に混合した後、アメリカンクッキー生地を得る。得られた生地を冷蔵庫で2時間ねかせた後、約4gに分けた後、160℃のオーブンで約28分間焼成する。得られたアメリカンクッキーを1ヶ月保存した後、食したが、腐敗、変敗等もみられず、味、風味とも良好なものであった。

16

【0043】

【実施例7】ソフトクリームミックス

脱脂粉乳8部、砂糖8部、果糖ブドウ糖液糖7部、水あめ4部、ヤシ油5部、サンベストSS14 0.3部、ホモゲンN0.94 0.2部、ワニラフレーバーN0.93-1 0.1部を配合したソフトクリームミックスを調整した。このものに、リゾチーム0.02部、ショ糖脂肪酸エステル0.01部を添加し、120℃、6秒の殺菌したものを、容器充填し、10℃にて7日間保存した。リゾチーム0.02部、ショ糖脂肪酸エステル0.01部を添加したものは腐敗していなかったが、リゾチーム0.02部、ショ糖脂肪酸エステル0.01部を添加していないものは腐敗を起こしていた。また、リゾチーム0.02部のみ、ショ糖脂肪酸エステル0.01部のみを別々に添加したのも、腐敗していた。

【0044】

【実施例8】フラワーペースト

グラニュー糖17%、全脂粉乳8.3%、無塩バター5%、コーンスターチ4.5%、薄力粉2%、全卵3.5%、香料0.2%、着色料（カロチンベースNO.9400\*）0.1%、水59.2%、リゾチーム0.05%、ショ糖脂肪酸エステル0.05%を定法に従い、フラワーペースト（Brix37°）を試作し、無菌容器に充填冷却後、30℃にて保存し、経日的に菌数測定を行った。また、リゾチーム0.05%、ショ糖脂肪酸エステル0.05%を加えない以外は、同じフラワーペーストを調製し、これに関しても経日的に菌数測定を行った。その結果を表6に記す。

【0045】

【表6】フラワーペーストの菌数測定の結果

| リゾチームとショ糖脂肪酸<br>エステルの配合量 (%) |                | 菌数 (個/g) |                 |                   |          |
|------------------------------|----------------|----------|-----------------|-------------------|----------|
| リゾチーム                        | ショ糖脂肪酸<br>エステル | 1日目      | 3日目             | 4日目               | 5日目      |
| —                            | —              | $10^6 <$ | $10^6 <$        | $10^6 <$          | $10^6 <$ |
| 0.05                         | 0.05           | $10 >$   | $3.0 \times 10$ | $6.4 \times 10^3$ | $10^6 <$ |

【0046】表6に示されるように、リゾチーム及びショ糖脂肪酸エステルを添加しなかったフラワーペーストは、1日目より菌数が $10^6$ 個/gを超えるいわゆる変敗状態であるのに対し、リゾチームとショ糖脂肪酸エ

ルを加えたものは、5日目にして漸く菌数が $10^6$ 個/gを超えた。つまり、リゾチームとショ糖脂肪酸エステルを併用した抗菌剤を用いることによって、有意に菌の抑制効果が見出された。

フロントページの続き

Fターム(参考) 4B021 LW04 LW06 MC01 MK21

MK23 MP01

4H011 AA02 BA06 BB08 BB23 DA02

DD07

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☒ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**